

Anna Łukaszewicz-Hussain

## ATYWNOŚĆ PARAOKSONAZY I STĘŻENIE NADTLENKÓW LIPIDÓW W SUROWICY KRWI SZCZURÓW W PODOSTRYM ZATRUCIU CHLORPYRIFOSEM – INSEKTYCYDEM FOSFOROORGANICZNYM

PARAOXONASE ACTIVITY AND LIPID PEROXIDES CONCENTRATION IN SERUM  
OF RATS SUBCHRONICALLY INTOXICATED WITH CHLORPYRIFOS – ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDE

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku / Medical University in Białystok, Białystok, Poland  
Zakład Toksykologii / Department of Toxicology

### STRESZCZENIE

**Wstęp:** Główny mechanizm działania toksycznego insektycydów fosforoorganicznych polega na hamowaniu aktywności acetylocholinoesterazy (AChE). Związki te jednak w ostrym oraz przewlekłym i podostрым zatruciu mogą powodować stres oksydacyjny w organizmie, prowadząc do wzrostu peroksydacji lipidów i zmian aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężenia nieenzymatycznych antyoksydantów. Paraoksonaza PON1 jest syntetyzowana w wątrobie. Enzym ten hydrolizuje związki fosforoorganiczne (np. paraokson), wodoronadtlenki fosfolipidów i estrów cholesterolu. Ponadto sugeruje się, że paraoksonaza PON1 odgrywa rolę antyoksydacyjną. Paraoksonaza chroni lipoproteiny niskiej gęstości przed reaktywnymi formami tlenu. Celem niniejszej pracy było badanie wpływu podostrego zatrucia niskimi dawkami chlorpyrifosu – insektycydu fosforoorganicznego – na aktywność paraoksonazy i stężenie nadtlenków lipidów w surowicy krwi szczurów. **Materiały i metody:** Szczury otrzymywały chlorpyrifos (sondą dożołądkowo) w dawkach 0,2, 2 lub 5 mg/kg m.c./dzień przez 14 dni. Oznaczano aktywność paraoksonazy przy użyciu zestawu Aryloesterase/Paraoksonase Assay Kit (prod. ZeptoMetrix Corporation Buffalo, USA) i stężenie nadtlenków lipidów przy użyciu zestawu LPO-586<sup>TM</sup> (prod. OXIS International, Foster City, California USA) w surowicy krwi zwierząt. **Wyniki:** Podanie zwierzętom doświadczalnym chlorpyrifosu spowodowało obniżenie aktywności paraoksonazy w surowicy krwi. Największe obniżenie obserwowano po podaniu insektycydu w dawkach 2 i 5 mg/kg m.c./dzień. W zatruciu najwyższą badaną dawką insektycydu obniżeniu aktywności paraoksonazy towarzyszył wzrost stężenia nadtlenków lipidów. **Wnioski:** W świetle danych z piśmiennictwa obserwacja, że narażenie na niskie dawki chlorpyrifosu prowadzi do istotnego statystycznie obniżenia aktywności paraoksonazy w surowicy krwi szczurów, świadczy o stresie oksydacyjnym po narażeniu na te związki. Sugeruje też konieczność zwrócenia uwagi na możliwość rozwoju choroby wieńcowej serca, hipercholesterolemii czy cukrzycy u osób narażonych na działanie insektycydów z tej grupy. Med. Pr. 2012;63(5):559–564

**Słowa kluczowe:** chlorpyrifos, paraoksonaza, nadtlenki lipidów

### ABSTRACT

**Background:** Toxicity of organophosphate insecticides is mainly due to the inhibition of acetylcholinesterase (AChE). However, organophosphate insecticides in acute, as well as in chronic and subchronic intoxication may lead to oxidative stress causing the enhancement of lipid peroxidation and changing the activities of antioxidative enzymes. Paraoxonase PON1 is synthesized by the liver. This enzyme hydrolyzes organophosphate compounds, phospholipid hydroperoxides and cholesterol ester hydroperoxides. Its role as an antioxidant has also been suggested. For this reason the aim of the work was to estimate the activity of paraoxonase and the level of serum lipid peroxides in the rats subchronically intoxicated with chlorpyrifos. **Materials and Methods:** The animals received chlorpyrifos at a single daily dose of 0.2, 2 or 5 mg/kg b.w./day for 14 days. For biochemical determinations of paraoxonase activity in serum of rats, Aryloesterase/Paraoksonase Assay Kit (ZeptoMetrix Corporation Buffalo, USA) and for lipid peroxides level, LPO-586<sup>TM</sup> (OXIS International, Foster City, Calif., USA) were used. **Results:** Chlorpyrifos administration resulted in a decreased activity of paraoxonase in serum. The highest decrease was observed after administration of chlorpyrifos in doses 2 and 5 mg/kg b.w./day. In the intoxication with the highest insecticide dose under study the decreased paraoxonase activity was accompanied by the increased level of lipid peroxides. **Conclusions:** In view of the literature data, the finding that low doses of chlorpyrifos lead to statistically significant decrease in paraoxonase activity in serum of rats provides evidence that exposure to organophosphate insecticides induces oxidative stress. It also suggests the need to take into consideration a possible development of arteriosclerosis, hypercholesterolemia and diabetes mellitus in people exposed to these compounds. Med Pr 2012;63(5):559–564

**Key words:** chlorpyrifos, paraoxonase, lipid peroxides

Adres autorki: Zakład Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku,  
ul. Mickiewicza 2c, 15-222 Białystok, e-mail: anhusa@wp.pl  
Nadesłano: 11 lipca 2012, zatwierdzono: 28 sierpnia 2012

## WSTĘP

Paraoksonaza 1 (arylodialkilo fosfataza, E.C.3.1.8.1) jest aryloesterazą o masie cząsteczkowej 43–45 kDa. Enzym syntetyzowany jest w wątrobie i wydzielany do surowicy wraz z frakcją lipoprotein wysokiej gęstości (high density lipoproteins – HDL). Paraoksonaza bierze udział w metabolizowaniu wielu ksenobiotyków, w tym leków (1–4). Substratem do oznaczania aktywności paraoksonazy jest paraokson, a substratem od oznaczania aktywności aryloesterazy – octan fenylu (1,3).

Zainteresowanie paraoksonazą wynika także z tego, że enzym ten hydrolizuje wiele związków fosforoorganicznych do ich nietoksycznych metabolitów. U osób z niską aktywnością PON1 (paraoksonaza 1 – PON1) może występować zmniejszona zdolność hydrolizowania niektórych form tych insektycydów, a mianowicie tlenowych pochodnych związków tiofosforowych, do których należy m.in. stosowany w niniejszej pracy chlorpyrifos (5–7). Insektycydy fosforoorganiczne uważane są obecnie za jeden z głównych składników zanieczyszczenia środowiska i żywności, z czego wynika ryzyko przewlekłego narażenia populacji generalnej na niewielkie ilości tych związków (8).

Wysoka aktywność PON1 poprzez hydrolizę paraoksonu i oksonu chlorpyrifosu zmniejsza toksyczność tych związków, co wykazano w badaniach *in vitro* i eksperymentach na zwierzętach (9–12).

Ponadto Akgur i wsp. (7) wykazali, że istnieje dodatnia korelacja między aktywnością paraoksonazy w surowicy krwi a aktywnością acetylocholinoesterazy (acetylocholinoesteraza – AChE) – enzymu kluczowego dla toksycznego działania insektycydów fosforoorganicznych. Najniższe aktywności PON1 w surowicy występowały u osób z niską aktywnością AChE. Wzrost szybkości hydrolizy tych związków prowadzi więc do zmniejszenia hamowania aktywności AChE, a wskutek tego do zmniejszenia nasilenia cholinergicznych objawów zatrucia ostrego insektycydami fosforoorganicznymi (6,9,11).

Paraoksonaza hydrolizuje nie tylko tlenowe pochodne insektycydów fosforoorganicznych, ale także wiązania estrowe w nadtlenkach fosfolipidowych i wodoronadtlenkach estrów cholesterolu, wykazując wtedy aktywność esterazową. Bierze też udział w rozkładzie nadtlenków wodoru, działając wtedy jak peroksydaza (1,2).

Jak wykazano, niska aktywność paraoksonazy może prowadzić do wzrostu stężenia reaktywnych form tlenu i stresu oksydacyjnego (1–3,12–14). Ze zjawiskiem stresu oksydacyjnego mamy do czynienia w zatruciach in-

sektycydami fosforoorganicznymi, a zjawisko to przez wielu autorów uważane jest za główny mechanizm toksycznego działania tych związków w przewlekłym narażeniu na nie (15,16). Skutkiem stresu oksydacyjnego w organizmie jest nasilenie utleniania lipidów i wzrost stężenia nadtlenków lipidów.

Celem niniejszej pracy było badanie wpływu podostrego zatrucia niskimi dawkami chlorpyrifosu – insektycydu fosforoorganicznego – na aktywność paraoksonazy i stężenie nadtlenków lipidów w surowicy krwi szczurów.

## MATERIAŁY I METODY

Badania wykonano na szczurach samcach szczepu Wistar (stado CRL: (WI)WUBR) o masie ciała 200–230 g, pochodzących z Hodowli Zwierząt Doświadczalnych w Brwinowie koło Warszawy. Zwierzęta karmione były granulowaną paszą standardową i pojone wodą *ad libitum*.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Białymstoku (decyzja nr 23/2008). Zwierzętom doświadczalnym przez 14 dni raz dziennie podawano sondą dożołądkową roztwór olejowy chlorpyrifosu (O,O-dietylo O-3,5,6-trichloro-2-pyridinylo fosforan) w dawce 0,2, 2 lub 5 mg/kg m.c./dzień. Zwierzęta z grupy kontrolnej w analogiczny sposób otrzymywały olej. Krew do badań biochemicznych pobierano przez punkcję dosercową 24 godziny po podaniu ostatniej dawki badanego związku fosforoorganicznego lub w przypadku grupy kontrolnej – oleju. Każda grupa liczyła 9 szczurów. Zwierzęta usypiano przy użyciu Vetbutalu. Krew po uzyskaniu skrzepu wirowano przez 10 min przy obrotach 1000×g, w celu otrzymania surowicy. W tak uzyskanej surowicy oznaczano aktywność paraoksonazy oraz stężenie nadtlenków lipidów.

Aktywność paraoksonazy oznaczano przy użyciu gotowego zestawu Aryloesterase/Paraoksonase Assay Kit (prod. ZeptoMetrix Corporation Buffalo, USA), zgodnie z instrukcją załączoną do zestawu. W zestawie tym wykorzystano reakcję katalizowaną przez aryloesterazę/paraoksonazę rozkładu octanu fenylu do fenolu. Ilość tworzonego fenolu mierzona jest poprzez monitorowanie wzrostu absorbancji przy długości fali 270 nm. Temperatura, w której przebiega reakcja, wynosi 25°C.

Jak już wspomniano, określenia ‘aktywność paraoksonazy’ używa się, kiedy substratem reakcji jest paraokson, a ‘aktywność aryloesterazy’ – kiedy substratem jest octan fenylu (1,3). W zestawie do oznaczania paraoksonazy jako substratu użyto octanu fenylu. Jedna jednost-

ka aktywności aryloesterazy jest równoważna 1  $\mu\text{M}$  fenolu powstającego w ciągu 1 min. Aktywność enzymu wyrażano w kU/l, w oparciu o współczynnik ekstynkcji dla fenolu  $1310 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , przy długości fali: 270 nm,  $\text{pH} = 8,0$  i temperaturze:  $25^\circ\text{C}$ . Standard PON1 znajduje się w zestawie.

Stężenie nadtlarków lipidów (lipid peroxides – LPO) oznaczano za pomocą gotowych zestawów LPO-586<sup>TM</sup> (prod. OXIS International, Foster City, Kalifornia, USA). Postępowano zgodnie z instrukcją załączoną do zestawu. Oznaczanie stężenia nadtlarków lipidów oparte jest na reakcji reagentu (N-metylo-2-fenylindolu) z dialdehydem malonowym (malonyldialdehyde – MDA) i 4-hydroksyalkenami w temperaturze  $45^\circ\text{C}$ , a powstający barwny kompleks ma maksimum absorpcji przy długości fali równej 586 nm. Stężenie LPO w próbce badanej obliczono z równania prostej, wyznaczonego na podstawie wykonanej krzywej wzorcowej, i wyrażano w  $\mu\text{mol/ml}$  surowicy.

W grupie kontrolnej oraz w grupach badanych szczurów obliczono średnie, odchylenia standardowe i wariancje. Wyniki uzyskane w poszczególnych grupach badanych odnoszono do grupy kontrolnej. Badano też zależności występujące między nimi za pomocą testu t-Studenta, przyjmując za różnice istotne statystycznie wartości różniące się przy  $p < 0,05$ . Oblicze-

nia statystyczne wykonano, posługując się programem komputerowym Statistica 10.1.

## WYNIKI

W niniejszej pracy posłużono się określeniem paraoksonazy, chociaż, jak wspomniano już wcześniej, aktywność enzymu oznaczano, używając jako substratu octanu fenylu.

W podostrym zatruciu chlorpyrifosem dochodzi do obniżenia – istotnego statystycznie w stosunku do wartości obserwowanej w grupie kontrolnej – aktywności paraoksonazy w surowicy krwi szczurów. Najniższe aktywności tego enzymu obserwowano po podaniu chlorpyrifosu w wyższych badanych dawkach. Były one istotnie statystycznie niższe także w stosunku do wartości obserwowanych po podaniu badanego związku w dawce 0,2 mg/kg m.c./dzień. Aktywność paraoksonazy w grupie szczurów otrzymujących chlorpyrifos w dawce 2 mg/kg m.c./dzień nie różniła się od uzyskanej w grupie zwierząt otrzymujących insektycyd w dawce 5 mg/kg m.c./dzień (tab. 1).

Istotny statystycznie w stosunku do kontroli wzrost stężenia nadtlarków lipidów obserwowano tylko po podaniu chlorpyrifosu w najwyższej badanej dawce. W pozostałych badanych grupach obserwowano jedynie tendencję wzrostową badanego parametru (tab. 2).

**Tabela 1.** Aktywność paraoksonazy w surowicy krwi szczurów w podostrym zatruciu chlorpyrifosem  
**Table 1.** Paraoxonase activity in serum of rats subchronically intoxicated with chlorpyrifos

grupa kontrolna control group	Aktywność paraoksonazy Paraoxonase activity (kU/l)		
	chlorpyrifos / chlorpyrifos		
	0,2 mg/kg m.c./dzień 0.2 mg/kg b.w./day	2 mg/kg m.c./dzień 2 mg/kg b.w./day	5 mg/kg m.c./dzień 5 mg/kg b.w./day
99,10±10,78	81,92±10,64 <sup>a</sup>	69,96±12,40 <sup>a,b</sup>	66,81±8,97 <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Istotne statystycznie do wartości w grupie kontrolnej / statistically significant compared with the control group.

<sup>b</sup> Istotne statystycznie do wartości w grupie szczurów otrzymujących chlorpyrifos w dawce 0,2 mg/kg m.c./dzień / statistically significant compared with the group of rats receiving chlorpyrifos in a dose of 0.2 mg/kg b.w./day.

**Tabela 2.** Stężenie nadtlarków lipidów w surowicy krwi szczurów w podostrym zatruciu chlorpyrifosem  
**Table 2.** Lipid peroxides concentration in serum of rats subchronically intoxicated with chlorpyrifos

grupa kontrolna control group	Stężenie nadtlarków lipidów w surowicy ( $\mu\text{mol/ml}$ surowicy) Lipid peroxides concentration ( $\mu\text{mol/ml}$ serum)		
	chlorpyrifos / chlorpyrifos		
	0,2 mg/kg m.c./dzień 0.2 mg/kg b.w./day	2 mg/kg m.c./dzień 2 mg/kg b.w./day	5 mg/kg m.c./dzień 5 mg/kg b.w./day
1,217±0,260	1,348±0,250	1,378±0,240	1,459±0,250 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Wynik istotny statystycznie w porównaniu z wartością w grupie kontrolnej / statistically significant compared with the control group.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Paraoksonaza występująca w surowicy pełni w organizmie ważną fizjologiczną rolę (1,2). Enzym ten pierwotnie był badany przede wszystkim pod względem zdolności do metabolizowania tlenowych pochodnych związków tiofosforoorganicznych, a wśród nich insektycydów, takich jak paration i jego tlenowa pochodna paraokson czy okson chlorpyrifosu.

W późniejszym okresie wiele badań poświęcono kardioprotekcyjnej roli enzymu. Wykazano bowiem, że lipoproteiny o wysokiej gęstości mają zdolność zapobiegania miażdżycy poprzez zmniejszenie stopnia utlenienia lipoprotein niskiej gęstości (low-density lipoproteins – LDL) i powstaniu utlenionego LDL, który kumuluje się w płytkach miażdżycowych (13,17–19). Opisane powyżej własności lipoproteiny HDL zawdzięczają związanej z nimi paraoksonazie. Wykazano także, że paraoksonaza ma specyficzną zdolność hydrolityczną w stosunku do utlenionych lipidów frakcji LDL (12,14,20).

Paraoksonaza poprzez wspomnianą hydrolizę utlenionych lipidów pośrednio hamuje procesy miażdżycorodnego działania oxLDL (oxidized low-density lipoproteins), a tym samym wykazuje w układzie krwionośnym działanie protekcyjne (1,14,17,21,22). Paraoksonaza PON1 wykazuje właściwości ochronne dzięki zdolności do hydrolizy utlenionych fosfolipidów i/lub wodorotlenków linoleinianu cholesterolu obecnych w oxLDL.

Jak pokazują ostatnie badania, działanie antyoksydacyjne PON1 można porównać do peroksydazy. Enzym ten chroni nie tylko lipidy przed utlenieniem, ale także białka krwi przed uszkodzeniami powodowanymi stresem oksydacyjnym (1,18,21–23). Mechanizm antyoksydacyjnego działania enzymu nie jest do końca poznany, jednak wydaje się, że ważną rolę w antyoksydacyjnych właściwościach PON1 odgrywa wolna cysteina znajdująca się w pozycji 283 polipeptydowego łańcucha tego enzymu (22). Paraoksonaza PON1 wykazuje także ochronne działanie w stosunku do błon erytrocytów. Enzym ten prawdopodobnie hydrolizuje nadtlenki lipidowe do mało reaktywnych alkoholi i kwasu karboksylowego, a tym samym zapobiega tworzeniu się wysoce toksycznych aldehydów (12,22,24). Jak wynika z badań, niska aktywność paraoksonazy w surowicy ułatwia tworzenie reaktywnych form tlenu (2).

W niniejszej pracy zaobserwowano, że podawanie szczurom przez 14 dni chlorpyrifosu prowadzi do obniżenia aktywności paraoksonazy (oznaczanej jako

aryloesteraza) w surowicy krwi, a obniżenie to jest największe w grupach szczurów otrzymujących insektycyd w dawkach 2 i 5 mg/kg m.c./dzień.

Chlorpyrifos należy do insektycydów średnio toksycznych dla szczura (25). U ludzi akceptowane dzienne pobranie określono na poziomie 0–0,01 mg/kg m.c., a ustalono je na podstawie dawki wynoszącej 1 mg/kg m.c. dziennie, która nie powoduje niekorzystnych skutków zdrowotnych u szczurów i przy zastosowaniu (dla ludzi) współczynnika bezpieczeństwa wynoszącego 100 (8,26). Tak więc dawki zastosowane w niniejszej pracy są poniżej akceptowanego dziennego pobrania (0,2 mg/kg m.c./dzień) lub 2- i 5-krotnie od niej wyższe.

W naszych wcześniejszych badaniach dotyczących ostrego zatrucia chlorfenwinfosem – insektycydem fosforoorganicznym – obserwowano wzrost stężenia  $H_2O_2$  zarówno w wątrobie, jak i surowicy krwi badanych szczurów (18). Wzrost stężenia nadtlenku wodoru w wątrobie obserwowano także w podoстрыm zatruciu chlorfenwinfosem, zarówno po 14, jak i 28 dniach podawania związku, przy czym stężenie to rosło wraz z wydłużeniem okresu podawania insektycydu (16).

W zatruciach insektycydami fosforoorganicznymi rzadko oznacza się stężenia reaktywnych form tlenu (reaktywne formy tlenu – RFT). Badane są przede wszystkim zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych i skutki wzmożonego generowania RFT w postaci wzrostu peroksydacji lipidów czy też wzmożonego powstawania grup karbonylowych – wskaźnika utleniania białek (15,27).

W niniejszych badaniach wzrost stężenia nadtlenków lipidów, istotny statystycznie w stosunku do wartości obserwowanych w grupie kontrolnej, obserwowano jedynie po 14-dniowym okresie podawania chlorpyrifosu w dawce 5 mg/kg m.c./dzień, a wzrostowi temu towarzyszyło obniżenie aktywności paraoksonazy o ponad 30%. Wzrost stężenia nadtlenków lipidów po podaniu chlorpyrifosu w najwyższej badanej dawce sugeruje, że enzym nie jest w stanie całkowicie zapobiec tworzeniu nadtlenków lipidów.

Z badań innych autorów wynika, że PON1 jest w stanie zahamować o 42–65% proces tworzenia się oxLDL, a jednocześnie procesowi temu towarzyszy hamowanie aktywności enzymu. Jego aktywność obniża się o około 22–25% (1). Rolę paraoksonazy w usuwaniu nadtlenków lipidów oraz jej właściwości antyoksydacyjne sugerują także inni autorzy (2,28).

Uzyskane w badaniach zmiany aktywności PON1 (oznaczanej, jak już pisano, jako aryloesteraza) i stę-



żenia nadtlenków lipidów wydają się potwierdzać cytowane powyżej dane z piśmiennictwa. Stwierdzono bowiem obniżenie aktywności enzymu o 17%, 30% i 33% dla dawek chlorpyrifosu odpowiednio: 0,2, 2 i 5 mg/kg/m.c./dzień. Obniżeniu temu towarzyszył wzrost stężenia nadtlenków lipidów, istotny statystycznie jedynie w przypadku podania najwyższej dawki badanego insektycydu, o czym już wspomniano. Można więc przypuszczać, że PON1 zapobiega tworzeniu nadtlenków lipidów w podostrym zatruciu niższymi dawkami chlorpyrifosu. Z kolei w przypadku najwyższej badanej dawki, mimo hamowania przez PON1 tworzenia oxLDL, dochodzi do utlenienia lipidów i wzrostu stężenia ich nadtlenków w surowicy.

Obniżoną aktywność paraoksonazy w surowicy krwi obserwowano w wielu przypadkach. Dotyczy to m.in. ludzi zatrutych związkami fosforoorganicznymi, a także osób cierpiących na cukrzycę typu I lub typu II (1,24,29). Zmniejszoną aktywność PON1 obserwuje się w hipercholesterolemii i chorobie wieńcowej serca, a obniżenie jej aktywności może przyspieszać rozwój chorób naczyń krwionośnych (1). Niska aktywność PON1 może prowadzić do wzrostu generacji reaktywnych form tlenu i stresu oksydacyjnego (2).

Z poprzednio prowadzonych badań wynika, że zarówno w ostrym, jak i podostrym zatruciu chlorfenwinfossem dochodzi do wzrostu stężenia nadtlenku wodoru – jednej z reaktywnych form tlenu w wątrobie szczurów (16). Zdaniem niektórych autorów zwiększone stężenie nadtlenku wodoru przyspiesza inaktywację PON1, a to powoduje, że enzym traci zdolność hydrolizowania tiolaktonu homocysteiny – czynnika miażdżycorodnego, który pobudza proces oksydacji cholesterolu LDL (1). Cytowane powyżej prace innych autorów i obserwowane w niniejszych badaniach obniżenie aktywności paraoksonazy w podostrym zatruciu chlorpyrifosem sugerują więc, że narażenie na insektycydy fosforoorganiczne może sprzyjać rozwojowi miażdżycy.

W świetle danych z piśmiennictwa obserwacja, że narażenie na niskie dawki chlorpyrifosu prowadzi do istotnego statystycznie obniżenia aktywności paraoksonazy w surowicy krwi szczurów i wzrostu stężenia nadtlenków lipidów, świadczy o stresie oksydacyjnym, który pojawia się w narażeniu na te związki. Sugeruje także konieczność zwrócenia uwagi na możliwość rozwoju choroby wieńcowej serca, hipercholesterolemii czy cukrzycy u osób narażonych na działanie insektycydów tej grupy.

## PIŚMIENNICTWO

1. Zielaskowska J., Olszewska-Słonina D.: Polimorfizm paraoksonazy a procesy fizjologiczne i patologiczne. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2006;15:1073–1078
2. Rahimi R., Abdollahi M.: A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2007;88:115–121
3. Aviram M., Rosenblat M., Billecke S., Eroglu J., Sorenson R., Bisgaier C.L.: Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:892–904
4. Biggadike K., Angell R.M., Burgess C.M., Farrell R.M., Hancock A.P., Harker A.J. i wsp.: Selective plasma hydrolysis of glucocorticoid  $\gamma$ -lactones and cyclic carbonates by the enzyme paraoxonase: an ideal plasma inactivation mechanism. *J. Med. Chem.* 2000;43:19–21
5. Costa L.G., MacDonald B.E., Marphy S.D., Omenn G.S., Richter R.J., Motulsky A.G. i wsp.: Serum paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990;103:66–76
6. Sozmen E.Y., Mackness B., Sozmen B., Durrington P., Girgin P.K., Aslan L. i wsp.: Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Hum. Exp. Toxicol.* 2002;21:247–252
7. Akgur S.A., Ozturk P., Sozmen E.Y., Delen Y., Tanyalcin T., Ege B.: Paraoxonase and acetylcholinesterase activities in human exposed to organophosphorus compounds. *J. Toxicol. Environ. Health* 1999;58:469–474
8. Rezg R., Mornagui B., El-Fazaa S., Garbi N.: Organophosphorus pesticides as food chain contaminants and type 2 diabetes: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 2010;21:345–357
9. Helliker P.E.: Evaluation of methyl parathion as a toxic air contaminant. California Environmental Protection Agency, Sacramento, CA (USA) 1993, ss. 1–136
10. Furlong C.E., Costa L.G., Hassett C., Richter R.I., Sundstrom J.A., Adler D.A. i wsp.: Human and rabbit paraoxonases: purification, cloning, sequencing, mapping and role of polymorphism in organophosphate detoxification. *Chem. Biol. Interact.* 1993;87:35–48
11. Li W.F., Costa L.G., Furlong C.E.: Serum paraoxonase status: A major factor of determining resistance to organophosphates. *J. Toxicol. Environ. Health* 1993;40:337–346
12. Aviram M., Rosenblat M., Bisgaier C.L., Newton R.S., Primo-Paro S.L., La Du B.N.: Paraoxonase inhibits high density lipoprotein (HDL) oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J. Clin. Invest.* 1998;101:1581–1590

13. Mackness M.I., Arrol S., Abbott C.A., Durrington P.N.: Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993;104:129–135
14. Mackness M.I., Arrol S., Durrington P.N.: Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991;286:152–154
15. Łukaszewicz-Hussain A.: Role of oxidative stress in organophosphates insecticide toxicity – short review. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2010;98(2):145–150
16. Łukaszewicz-Hussain A.: Stężenie glutationu w wątrobie i w surowicy krwi oraz nadtlenu wodoru w wątrobie szczurów w podostrym zatruciu chlorfenwinfossem – insektycydem fosforoorganicznym. *Med. Pr.* 2011;62(1):23–29
17. Costa L.G., Cole T.B., Furlong C.E.: Paraoxonase: from toxicology to cardiovascular medicine. *Acta Biomed. Atenei Parmens.* 2005;76(Supl. 2):50–57
18. Costa L.G., Vitalone A., Cole T.B., Furlong C.E.: Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem. Pharmacol.* 2005;60:541–550
19. Mackness M.I., Abbott C., Arrol S., Durrington P.N.: The role of high density lipoprotein and lipid-soluble antioxidant vitamins in inhibiting low-density lipoprotein oxidation. *Biochem. J.* 1993;294:829–835
20. Watson A.D., Berliner J.A., Hama S.Y., La Du B.N., Faull K.F., Fogelman A.M. i wsp.: Protective effect of high-density lipoprotein associated with paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimal oxidized low-density lipoprotein. *J. Clin. Invest.* 1995;96:2882–2891
21. Rozenberg O., Rosenblat M., Coleman R., Shih D.M., Aviram M.: Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: Studies in PON1-knockout mice. *Free Radic. Biol. Med.* 2003;34:774–784
22. Aviram M., Billecke S., Sorenson R., Bisgaier C., Newton R., Rosenblat M. i wsp.: Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase alloenzymes Q and R. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998;18:1617–1624
23. Feretti G., Bacchetti T., Busni D., Rabini A., Curatola G.: Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoprotein against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type 1 diabetic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89:2957–2962
24. Mackness B., Mackness M.I., Arrol S., Turkie W., Julier K., Abuasha B. i wsp.: Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341–349
25. Tomlin C.D.S.: *The Pesticide Manual. A World Compendium.* British Crop Protection Council, Alton (UK) 2006, ss. 186–187
26. FAO Specifications and evaluations for agricultural pesticides. Chlorpyrifos, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Geneva 2006
27. Łukaszewicz-Hussain A.: Activities of brain antioxidant enzymes, lipid and protein peroxidation. *Cent. Eur. J. Med.* 2011;6(5):588–594
28. Mackness M.I., Harty D., Bhatnagar D., Winocour P.H., Arrol S., Ishola M. i wsp.: Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991;86:193–199
29. Mackness B., Durrington P.N., Boulton A.J., Hine D., Mackness M.I.: Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *Eur. J. Clin. Invest.* 2002;32:259–264